

マウス外眼筋の神経筋接合部と筋線維型の構造特性に関する組織化学的研究

金沢大学医学部解剖学教室第一講座 (主任: 本陣良平教授)

中 村 俊 雄

(昭和51年7月7日受付)

本論文の一部は、第10回国際解剖学会において発表した。

外眼筋は、きわめて速い収縮とゆっくりした持続性の収縮の両種の収縮が可能であること^{1)~3)}や、広範囲の刺激頻度に連続的に応答出来ること⁴⁾、長時間にわたる激しい運動によっても疲労しにくいこと⁵⁾⁶⁾、curare や succinylcholine などの筋弛緩剤に対して特異な反応を示すこと²⁾³⁾⁷⁾⁸⁾、重症筋無力症で高率に侵される⁹⁾が、筋萎縮性側索硬化症ではきわめて稀にしか侵害されないこと¹⁰⁾、支配神経切断によって筋の肥大がおこること¹¹⁾など、一般骨格筋に比して著しく異なった特性を有していることが知られている。

この特異な外眼筋の、構造ならびに神経支配については、前世紀末の Maeda¹²⁾ や Retzius¹³⁾ の研究以来、膨大な数の報告がなされ、多くの知見がもたらされた。特に外眼筋は1種の筋線維でなく、構造ならびに機能特性を異にする幾種かの筋線維で構成されていることが明らかになった。そして外眼筋を構成する筋線維は、その太さ¹⁴⁾、筋原線維の分布様式¹⁵⁾、酵素組織化学的特性¹⁶⁾、神経支配様式¹⁷⁾、神経筋接合部の種類¹⁸⁾、筋線維の超微構造上の差異¹⁹⁾、生理学的特徴²⁰⁾などを指標として、種々の筋線維型に分類されてきた。しかし、指標を異にする各種分類相互間の関連は明確でなく、同じ名称の筋線維型が、研究者間で著しく異なった構造を示しているなど、今日、外眼筋の筋線維型の分類ならびに命名にかなりの混乱が見られる。この混乱の主要な原因は、分類が筋に限られた一部についての検索からなされてきたことと、異なった指標による分類相互間の正確な関連づけが不充分であったこ

とによると考えられる。

筋線維型の分類とその構造特性の解明は、外眼筋の機能を理解する上で、きわめて重要なことと考えられる。今回著者は、上記諸点を考慮し、材料としては全外眼筋の連続切片作製の可能なマウスを選び、神経筋接合部の種類と神経支配様式との相関を調べるために、コリンエステラーゼ (以下「ChE」と略記) 活性と神経軸索の二重染色法を、また神経筋接合部と筋線維の酵素組織化学的特徴との相関を調べるために、ChE 活性とコハク酸脱水素酵素 (以下「SDH」と略記) 活性の二重検出法を用いて、筋線維型の分類を再検討し、3種の基本的な型に分類して、その構造特性を調べた。

材 料 と 方 法

実験材料として、純系成熟 KH-1 種マウス (*Mus wagneri* var. *albula*) の外眼筋を使用した。外眼筋は左眼球と共に一括して取り出し、I) パラフィン切片、II) 新鮮凍結切片、III) 分離細解標本 (teased preparation)、IV) 塊染色 (*en bloc*) 標本作製し、以下数種の方法を施した。

パラフィン標本は、矢状断、必要に応じて前頭または水平断の10 μ 連続切片とし、1) Cajal 写真銀法の本陣変法²¹⁾による神経軸索染色法 (以下「C-H」法と略記)、2) OsO₄ と Sudan black B による髄鞘染色法 (以下「Os-S」法と略記): formaldehyde 溶液 0.2 ml, Tyrode 液 2.8 ml, 2% OsO₄ 水溶液 3.0 ml

Histochemical Studies on the Structural Characteristics of the Neuromuscular Junctions and Muscle Fiber Types in the Extraocular Muscle of the Mouse. Toshio Nakamura, Department of Anatomy (Director: Prof. R. Honjin), School of Medicine, Kanazawa University.

の混合液で4℃、2時間固定後、型のごとくパラフィン切片とし、脱パラフィン後、0.1% Sudan black B の70% ethanol 溶液で、室温中5分間染色し、70% ethanol で分別後、水洗し、polyvinylpyrrolidone溶液²⁰⁾に封入した。3) ヘムアラウム・エオジン染色 (以下「H-E」と略記) を施した。

新鮮凍結切片は、眼球と共に外眼筋を取り出し、15% polyvinylpyrrolidone 水溶液に30秒間浸し、直ちに木製の台に載せ、-20℃で凍結させ、クライオスタットで矢状断、必要に応じて前頭および水平断、25~40μ連続切片とした。切片はカバーガラスに載せ、室温に保った formaldehyde 蒸気中で、切片をガラスに融解貼付すると同時に固定した。SDH 活性検出の際は、この蒸気固定は行わず、直ちに切片をヘアードライヤー (室温) で乾燥した。凍結切片の染色法は、1) Karnovsky と Root²³⁾ および Koelle と Friedenwald 法の変法²⁴⁾ による ChE 活性検出法 (以下「ChE 法」と略記)、2) 前記 C-H 法の変法による軸索染色法^{25,26)} (以下「axon 法」と略記)、3) 中村らの ChE 活性と軸索の二重染色法^{24,25)} (以下「ChE-axon 法」と略記)、4) Nachlas ら²⁶⁾ の SDH 活性検出法 (以下「SDH 法」と略記)、5) 前記 SDH 活性と ChE 活性の二重検出法 (以下「SDH-ChE 法」と略記) を行なった。SDH-ChE 法の操作中、切片がカバーガラスから剝離するのを防止するため、カバーガラスに貼付乾燥させた切片を、-20℃に冷却した、0.5% ツェロイジン溶液 (ethyl ether・ethanol・acetone の等量混合液に溶かしたもの) に2秒間浸し、切片をセロイジンの薄膜で被った後、基質液に浸漬した。

分離細解標本は、次の2種のものを作製した。1) ChE 法を施した筋の分離細解標本 (以下「ChE-teased 法」と略記): glutaraldehyde と paraformaldehyde を夫々 0.5% と 1% の割合に含む Tyrode 液で4℃、30分間固定後、ChE 基質液 (pH5.5) 中に20℃で1.5時間浸漬後、2% OsO₄ 水溶液と前固定液の等量混合液で4℃、2時間後固定し、筋線維を硬化させ、実体顕微鏡下で柄針を用いて筋線維を分離細解し、ethanol, xylol に通して balsam で封入した。2) SDH-ChE 法を施した筋の分離細解標本 (以下「SDH-ChE-teased」と略記): 外眼筋を塊のまま SDH 法の基質液に、20℃で2時間、振盪しながら浸漬し、Tyrode 液で洗滌後、ChE-teased 法によって ChE 活性を検出し、1% 酢酸水に1晩放置後、前法に従って分離細解標本作製した。

実体顕微鏡下で、神経筋接合部の分布を調べるために、羽岡²⁷⁾の方法で ChE 活性の塊染色標本作製し

た。

なお SDH 活性検出の際の対照として、前脛骨筋を外眼筋に密着させて凍結切片とし、同一条件で活性を検出した。

所 見

I. 外眼筋の一般的構造

実体顕微鏡観察により、マウス外眼筋は、上・下・内側・外側の4直筋、上・下の2斜筋、上眼瞼挙筋および視神経を取囲み漏斗状に広がって眼球後面に停止している眼球牽引筋 (retractor bulbi muscle) の8筋からなっていることを確かめた (図1~3)。外眼筋の色は薄桃色で、赤筋に属するヒラメ筋より、はるかに白く、白筋に属する腓腹筋よりも赤味を帯びている。マウス外眼筋の長さは、4直筋で約4mm、最も長い上斜筋で約6mmであり、全外眼筋を眼球と共に一括して連続切片とすることが可能である。各外眼筋は、その中央部がもっとも厚く、筋の両端部ではその厚さが、中央部の厚さの $\frac{2}{3}$ から $\frac{1}{2}$ に減少している。

中央部の横断切片を観察すると、外眼筋は種々の太さの筋線維から構成されていることがわかる。これらの筋線維は大径筋線維、小径筋線維 (大径筋線維の直径の $\frac{1}{2}$ 程度の直径) および極小径筋線維 (大径筋線維の直径の $\frac{1}{4}$ ~ $\frac{1}{5}$ 程度の直径) の3種に区分することが出来る (写真1, 4)。対照に作製した前脛骨筋に比し、外眼筋の筋線維は全般に細く、外眼筋の大径線維の直径は、前脛骨筋

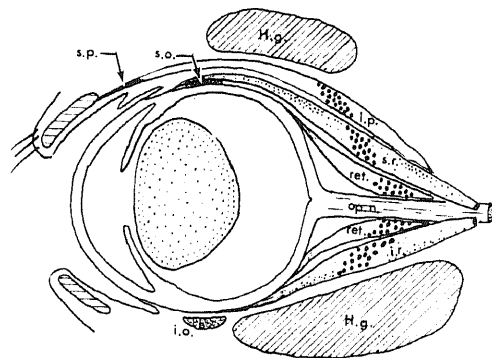


図1 マウス外眼筋の神経筋接合部の分布を示す模式図 (左眼の縦断)

大きい丸印は大型神経筋接合部を、小さい丸印は小型神経筋接合部を示す。上眼瞼挙筋と眼球牽引筋には小型神経筋接合部を欠いている。H.g.: Harder's gland, i.o.: 下斜筋, i.r.: 下直筋, l.p.: 上眼瞼挙筋, op.n.: 視神経, ret.: 眼球牽引筋, s.o.: 上斜筋, s.p.: 上眼瞼板筋 (平滑筋), s.r.: 上直筋。

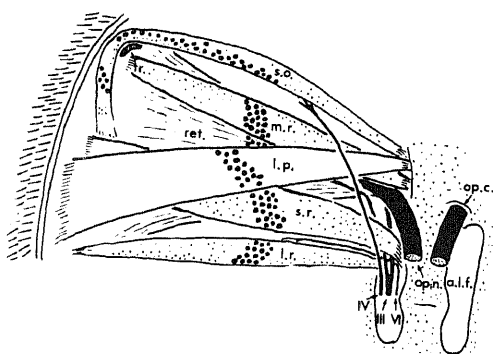


図2 マウス外眼筋の神経筋接合部の分布を示す模式図 (左眼窩上壁を除去し, Harder 氏腺を摘出し, 上方から外眼筋を見た図)

大きい丸印は大型, 小さい丸印は小型神経筋接合部を示す。大型神経筋接合部は, 各筋の中央部に限局して帯状の分布をしている。上斜筋では, 大型神経筋接合部は筋腹中央から滑車部にわたる長い帯状の領域と, 滑車・停止部の中央の帯状の領域の2か所に分布している。III: 動眼神経, IV: 滑車神経, VI: 外転神経, a.l.f.: anterior lacerated foramen (前破裂孔), l.p.: 上眼瞼挙筋, l.r.: 外側直筋, m.r.: 内側直筋, op.c.: 視神経管, op.n.: 視神経, ret.: 眼球牽引筋, s.o.: 上斜筋, s.r.: 上直筋, tr.: 滑車。

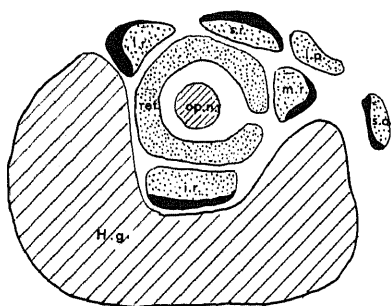


図3 マウス外眼筋の小径筋線維領域の分布を示す模式図 (視神経が眼球に入る直前の位置で左外眼筋を横断し, 後方より見た図)。

黒く塗った部分は, 小径筋線維領域を示す。

H.g.: Harder's gland, i.r.: 下直筋, l.p.: 上眼瞼挙筋, l.r.: 外側直筋, m.r.: 内側直筋, op.n.: 視神経, ret.: 眼球牽引筋, s.o.: 上斜筋, s.r.: 上直筋。

の大径線維のその1/2以下で, 外眼筋の大径線維は前脛骨筋の小径線維とほぼ同じ直径を有している。

上眼瞼挙筋と眼球牽引筋を除く他のすべての外眼筋において, 小径および極小径筋線維が集まり, 大径筋線維を欠く三日月形の領域が認められる (写真3, 4)。この領域を小径筋線維領域と名付ける。小径筋線維領域以外の部は多数の大径筋線維と少数の小径筋線維および極く少数の極小径筋線維からなっている (写真3, 4)。この領域を便宜上, 大径筋線維領域と名付ける。大径筋線維は大径筋線維領域の筋線維の数のほぼ1/2を占めている。両筋線維領域は, 薄い結合組織性の中隔で区切られている。小径筋線維領域は, 各外眼筋の中央部横断面で, 全面積のほぼ1/2を占め, その位置は, 上斜筋では, 視神経に面する内深層に, 他の筋では眼窩に面する外表層にある (写真3, 図3)。

小径筋線維領域の筋線維の長さは, 大径筋線維領域のそれに比して短く, 筋の附着部のかなり手前で腱に移行し, 長い腱を有している (写真5)。上眼瞼挙筋は停止部に近づくにつれて扇形に広がり (図2), 瞼板後端の結膜側に停止する (図1)。この筋は停止部のかなり手前の結膜円蓋の附近で順次腱に移行し, 腱に移行する部位から, 平滑筋性の上眼瞼筋が出現し, 上眼瞼挙筋の横紋筋線維と瞼板筋の平滑筋線維が混在し, 両線維の隣接像が認められる (写真6)。瞼板に近づくにつれ, 横紋筋の数は次第に減少し, 逆に平滑筋線維が増え, 附着部近傍では, すべて平滑筋線維からなっている。

外眼筋の筋線維は, 筋腱移行部に近づくにつれ, 細くなる。特に小径筋線維に著しい径の減少が認められ, 筋の両端に近い部では, 中央部の径の1/2程度に直径が減少している (図4)。筋腱移行部には, かなり強いChE活性が認められる (写真7)。この部で検出されるChE活性陽性の構造は, 神経筋接合部のそれと著しく異なっている。ChE活性を有する小桿状構造が, 筋線維の方向に柵状に平行配列をし, 全体として腱の方に頂点を向けた円蓋状の分布を示している (写真7)。この部はChE活性を有するが, ChE-axon法で検しても, 神経線維の関与は認められなかった。

前述のように小径筋線維領域の筋線維は早くに腱に移行するが, その筋腱移行部の位置はChE法で明瞭に示される。この方法で検すると, 早くに腱に移行する筋は, 両端1/2の部に達するとすぐ腱に移行することが判明した。きわめて稀であるが, 筋の1端から筋の全長のほぼ1/2の長さの距離に, 一般の筋腱移行部と逆方向に, 頂点を筋の中央部へ向けた円蓋状の筋腱移行部の存在がChE法標本で観察された (写真8)。このことは, 筋の全長のほぼ1/2の長さの短い筋線維が, 筋

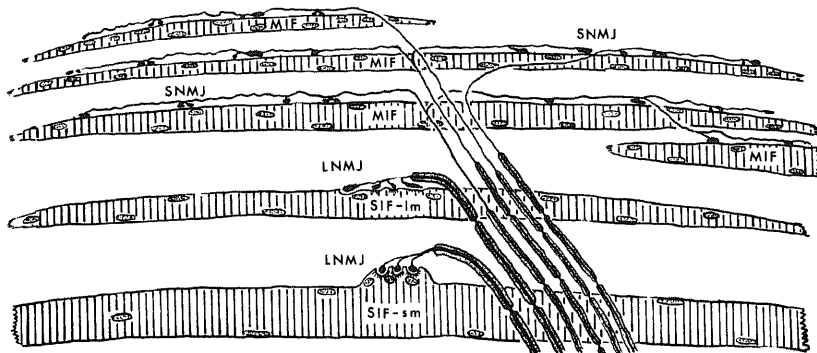


図4 マウス外眼筋の3種の筋線維型の外形、神経筋接合部および支配神経の相関を示す模式図

MIFのうち、一端が筋の中央部または両端から約 $\frac{1}{2}$ の部で終る短い筋線維が存在する。MIF：多重支配型筋線維，SIF-lm：SDH活性の強い単一支配型筋線維，SIF-sm：SDH活性の弱い単一支配型筋線維，LNMJ：大型神経筋接合部，SNMJ：小型神経筋接合部。

の両端部に位置して存在することを示している（図4）。この筋の全長の $\frac{1}{2}$ の長さの短い筋線維は、小径筋線維にのみ認められ、分布部位は小径および大径筋線維領域のいずれにも存在するが、数はきわめて少い。

極小径筋線維を連続切片の再構築法によって、その腱への移行部を追跡すると、一部の筋線維は、筋の中央部に近づくにつれ次第に細くなり、ほぼ筋の中央部で筋線維が見えなくなった。その際、筋線維の周縁に位置していた核が、次第に中央に位置を変え、いわゆる中心核（centrally located nuclei）の形態をとる（写真2）。この筋線維は、その末端がきわめて細く、H-E標本では筋腱移行部の正確な位置を判定することはできなかった。ChE法標本では、円錐状に配列したChE活性陽性の構造によって筋腱移行部の位置を知ることが出来た（写真9）。その位置は筋のほぼ中央部にある。これらの所見は、極小径筋線維の一部に、筋全長のほぼ半分の長さの短い線維があり、その線維は筋の一側に位置していることを示している（図4）。この種の短い極小径筋線維は、今回の検索では、小径筋線維領域にのみ認められた。

筋線維の分岐像は、稀に筋腱移行部附近で認められた（写真6）。

いずれの筋線維においても、核は大部分が筋線維の周縁に位置している。時折いわゆる中心核が認められた。中心核は大径筋線維にも稀に認められる（写真4）が、小径および極小径筋線維に多く認められ（写真4）、特にそれらの筋腱移行部附近に多く出現する（写真5）。

II. 外眼筋の神経筋接合部

ChE-teased法で検すると、外眼筋には強いChE活性を示す大型神経筋接合部（large neuromuscular junction, 以下「LNMJ」と略記）と比較的に弱いChE活性を示し、LNMJの $\frac{1}{2}$ 以下の長径を有する小型神経筋接合部（small neuromuscular junction, 以下「SNMJ」と略記）が認められる（写真10, 11）。筋線維はLNMJを1個有するものと、多数のSNMJを有するものの2種に分類できる（写真10, 11）。神経筋接合部の分布様式から、前者を単一支配型筋線維（singly-innervated muscle fiber, 以下「SIF」と略記）、後者を多重支配型筋線維（multiply-innervated muscle fiber, 以下「MIF」と略記）と名付ける。SIFはすべての外眼筋に存在するが、MIFは、上眼瞼挙筋と眼球牽引筋には認められなかった。SIFは大径および小径筋線維に、MIFは小径および極小径筋線維に認められた。従って小径筋線維には、SIFに属するものとMIFに属するものがある。

C-H法標本を検すると、LNMJを形成する神経線維は大径で、神経線維は筋線維表面に到達すると樹枝状に分岐し、数本の細い終末軸索となって典型的な運動終板を構成する（写真16, 17）。終末軸索の分布は、大径筋線維と小径筋線維で若干異っている。大径筋線維では、LNMJの終末分枝は局限した狭い範囲にあり、Salpeterら²⁸⁾のcompact typeに相当し（写真12, 16, 31）、小径筋線維では、終末分枝の分布範囲が比較的広く、Salpeterら²⁸⁾のdiffuse typeに相当する（写真9, 13, 31）。ChE法で観察されるLNMJ

の構造は、マウス頬筋で観察した羽岡²⁷⁾の運動終板のそれと同様である(写真14, 31)。ChE-axon 法で LNMJ と神経線維との相関を検すると、LNMJ は1本の神経分枝によって支配されていることが明らかになった(写真15)。LNMJ を形成する神経線維は、LNMJ の近くで分岐して別々の筋線維に到達する像は、きわめて稀にしか認められなかった(写真16)。Boeke²⁸⁾ はネズミ舌筋で、Wolter³⁰⁾ はヒト外眼筋で LNMJ のすぐ近傍に、無髄神経由来の小終末が存在することを述べているが、今回の著者の検索では、このような像は認められなかった。また著者³¹⁾ はラット外眼筋で LNMJ の一端から繊細な神経軸索が伸びてすぐ近傍に小終末を形成している像を見出したが、今回のマウス外眼筋の検索では、そのような所見は見られなかった。Os-S で検すると、LNMJ を形成する神経線維は、大径有髄線維に属し、LNMJ のすぐ近傍まで髄鞘を保持している。ChE 活性塊染色標本の実体顕微鏡観察および、ChE 法連続切片の再構築法によって、LNMJ は各外眼筋のほぼ中央部に、幅約 0.5 mm のいわゆる terminal innervation band³²⁾ を形成して帯状に分布していることを確かめた(写真17, 23, 図1, 2)。矢状断で LNMJ の分布を見ると、LNMJ は全外眼筋を通じて、ほぼ眼球後面の曲率と平行した同心状の配列を示しており、各外眼筋では、筋の走行に対してやや斜め帯状の配置をとっていることが判る(図1)。上斜筋では、LNMJ は起始と滑車の中央部から滑車に向って斜め帯状に分布する群と、滑車と停止の中央部に帯状に分布する2群が見られる(図2)。

SNMJ は LNMJ に比して ChE 活性が弱く LNMJ と同程度の活性を検出するためには、ほぼ2倍の基質液浸漬時間を要した。ChE 法標本で SNMJ を検すると、その形態は多様で、LNMJ を $\frac{1}{2}$ 以下に縮小したような鹿の角状のものから、これより小型の輪状・円盤状・楕円形・紡錘形など種々のものが認められる(写真18, 19)。SNMJ の MIF 上の分布は、かなり不規則で、隣接 SNMJ の間隔は、長短さまざま、かつその位置も直線状でなく、筋線維の全周にわたって存在している(写真18)。ChE-axon 法標本を検すると SNMJ は、その形態の如何を問わず、すべて繊細な神経線維によって支配されている(写真20, 21)。1本の神経線維は同一筋線維上の幾つかの SNMJ を共通に支配しているのみならず、しばしば近傍に位置する別個の筋線維上の SNMJ をも共通に支配している(写真20, 21)。また1本の MIF の SNMJ が2本の神経線維によって、いわゆる polyneuronal な支配を受けている像にもしばしば接した(写真21)。この2

本の神経線維が同一 neuron に由来するのか、別個の neuron に由来するのかは、今回の検索では結論を得ることはできなかった。SNMJ は支配神経自身が腫大したと考えられるものと、短い側枝を出し、その先端が腫大して形成されたと考えられるものの2様のものが認められた(写真20)。axon 法標本で、繊細な神経線維が、その走行中に静脈瘤様腫大を示している像に、時折接した(写真22)。この腫大部は筋線維表面に密接していることと、その形態および ChE-axon 標本所見との対比から、神経線維の走行中に形成されるいわゆる synapse en passant 型の SNMJ であろうと推測される。SNMJ の大部分は筋の両端 $\frac{1}{3}$ の部に分布している(写真23, 図1, 2)。筋の中央部にも SNMJ は少数、散在性に認められた。筋線維領域と SNMJ の分布の関係を見ると、SNMJ は小径筋線維領域に多く見られる(写真23)。C-H 法標本で SNMJ の支配に関与する繊細な神経線維を中枢側へ辿ると、個々の神経線維は次第に集って束を形成し、筋の中央部で LNMJ の支配に関与する大径の神経線維からなる神経束に合流する(写真15, 24)。Os-S 法で髄鞘を染めて、この両種神経線維の合流点を検索すると、大径の神経線維も細い神経線維も共に髄鞘を有していることが明らかになった(写真25)。両種神経線維が合流した部の神経束の横断像で、大径有髄線維に混ざって、その径の $\frac{1}{2}$ 以下の小径有髄線維が認められる(写真26)。この小径有髄線維を、逆に末梢側へ追跡してみると、神経束を形成していた小径有髄線維は、神経束の分岐にとりなって、次第に細い束になり、筋の両端 $\frac{1}{3}$ の部近くに達すると、小径有髄線維は、その髄鞘を失なう(写真27)。筋の両端 $\frac{1}{3}$ の部では、大径有髄線維も LNMJ も認められない。同時に、この部では小径有髄線維の数は、ChE-axon 法標本で認められた神経線維の数に比して著しく少ない。これらのことは、SNMJ を支配する神経線維は、小径有髄神経に由来し、この神経は SNMJ に到達するかなり手前で髄鞘を脱し、無髄神経となって MIF 上の SNMJ を支配していることを示している。

マウス外眼筋のいずれにも、被膜に包まれた筋紡錘は見られず、また筋紡錘に特徴的なラセン型(annulo-spiral)や花序型(flower-spray)の求心性終末は認められなかった。

前述のように、筋の全長の $\frac{1}{3}$ の長さの短い筋線維は、筋の両端 $\frac{1}{3}$ の部に存在し、この部では LNMJ は存在せず、また大径有髄線維が見られず、SNMJ のみが分布しているところから、この短い筋線維は MIF であろうと推定した。また極小径筋線維に属し筋の全長

の半分位の長さの短い線維も、極小径筋線維に SIF は見られなかった所見から、MIF に属すると推定された。

III. 神経支配様式とコハク酸脱水素酵素活性による筋線維型の分類

前述のように、外眼筋線維は、その神経支配様式によって、SIF と MIF の 2 種に分類されるが、さらに、この 2 種の筋線維型と SDH 活性の相関を SDH-ChE 法および SDH-ChE-teased 法で検索した。

MIF の SDH 活性は、きわめて微弱であった (写真 28~30)。MIF は極小径筋線維に属するものと小径筋線維に属するものの両者があるが、そのいずれも SDH 活性は微弱であった。極小径 MIF の大部分は小径筋線維領域に、小径 MIF の大部分は大径筋線維領域に分布している (写真 30, 35)。今回の検索では、小径筋線維領域で全筋線維数に対する MIF の数は 20% 以下、大径筋線維領域では、その割合は 10% 以下と概算される。

SIF は SDH の弱いものと強いものの 2 種類に大別出来る (写真 31~33)。SDH 活性はミトコンドリア (以下「mito.」と略記) に局在していることは、生化学的^{33, 34)}にも、電子顕微鏡的組織化学^{35, 36)}によっても明らかにされており、骨格筋については、SDH 活性と電子顕微鏡 (以下「電顕」と略記) 像における mito. の量が比例関係にあることが確められている³⁷⁾。これらの点を参照し、SIF で SDH 活性の強いものを SIF-lm (singly-innervated fiber with a large amount of mitochondria), SDH 活性の弱いものを SIF-sm (singly-innervated fiber with a small amount of mitochondria) と命名して分類した。この名称および分類は、可視光顕微鏡 (以下「光顕」と略記) による分類を電顕による分類と対応させる際に好都合であると考えられる。

上眼瞼挙筋と眼球牽引筋を含めて、外眼筋の SIF-sm は、大径筋線維に属し、SDH 活性の反応産物 (formazan) は微細顆粒状で筋内に均等に分布している (写真 30, 31, 33, 34)。一方 SIF-lm は小径筋線維に属し、SDH 活性の反応産物は粗大顆粒状で、筋内に不均一に分布し、また筋線維の周縁を取囲む様に、反応産物は筋鞘下に集積している (写真 30, 32~35)。

上眼瞼挙筋と眼球牽引筋は MIF を欠き、SIF-lm と SIF-sm が無秩序にモザイク状に分布している (写真 33, 34)。この両筋以外の外眼筋では、SIF-lm は小径筋線維領域に密集して分布するほか、少数は大径筋線維領域に散在している (写真 30, 32, 33)。SIF-sm

は大径筋線維領域にのみ分布している (写真 32)。

以上の 3 種の筋線維型の特徴を図 4 で示した。MIF は極小径または小径筋線維に属し、微弱な SDH 活性を示し、比較的弱い ChE 活性を示す多数の SNMJ を筋線維の全長にわたって散在性に備え、その SNMJ は小径有髄線維に由来する無髄神経線維によって多重支配されている。この筋線維は主に小径筋線維領域に分布している。SIF-lm は小径筋線維に属し、強い SDH 活性を示し、強い ChE 活性を呈する diffuse type の LNMJ を 1 個、筋線維の中央に有し、その LNMJ は大径有髄神経線維によって単一支配を受けている。この筋線維は、主に小径筋線維領域に密集し、SIF-sm に比して早く腱に移行する。SIF-sm は大径筋線維に属し、弱い SDH 活性を示し、強い ChE 活性を呈する compact type の LNMJ を 1 個、筋線維の中央に有し、その LNMJ は大径有髄神経線維によって単一支配を受けている。この筋線維は大径筋線維領域に局限して存在している。

考 按

1. 外眼筋の筋線維型の分類

従来、骨格筋の分類は、1873 年 Ranvier³⁸⁾の提唱した、筋の色による、赤筋・白筋の分類が広く用いられて来た。現在、筋の赤色は、myoglobin³⁹⁾と mito. 系の呼吸酵素⁴⁰⁾に主に依存していることが明らかになっている。今回の肉眼的観察では、マウス外眼筋は、赤筋に属するヒラメ筋と白筋に属する腓腹筋の中間の色を呈していた。

近年、酵素組織化学的研究法が、筋線維型の分類に応用されるに及び^{41, 42)}、骨格筋の筋線維構築は従来考えられていたほど単純なものでなく、大部分の筋は赤筋・白筋両線維の混合筋であることが明らかになった。今回のマウス外眼筋の検索でも、SDH 活性の異なる筋線維が複雑な構築をしていることが明らかになった。肉眼的に赤く見える筋線維には、SDH のような mito. に局在する酵素の活性が強いこと^{43, 49)}から、SDH 活性検出法が筋線維型の分類に最初に導入され⁴¹⁾、しかも現在まで最も広く用いられている。著者は、SDH 活性は mito. の大きさと数に密接に関連していることが明確になっているので、光顕・電顕所見の対比の便も考慮して SDH 活性を筋線維型分類の一つの指標に選んだ。

外眼筋の筋線維型の分類は、Nachamias ら¹⁰⁾の研究以来、SDH 活性をはじめ、種々の酵素活性を指標として、種々の動物でなされ^{11) 44) ~ 50)}、主に 2 型か 3 型、時に 5 型あるいは 7 型に分類されている。小径筋線維に

SDH 活性が強く、大径筋線維に SDH 活性が弱いことについては、諸家の意見はほぼ一致している。著者の今回の所見も同様であった。しかし MIF に相当する SDH 活性の微弱な極小径および小径線維についての記載は Mayr¹⁸⁾ の一報を数えるに過ぎない。MIF は、SDH 活性が微弱で、かつ細いため多くの研究者によって見落されていたものと考えられる。今回の検索では SDH-ChE を用いたため、MIF の検出はかなり容易になった。

ところで、分類の指標にしばしば筋線維の太さが選ばれているが、すでに Voss³¹⁾ などによって指摘され、今回の観察からも明らかのように、外眼筋の筋線維の太さは、全長にわたって同じでなく、筋線維の両端部では著しく細くなるものが多い上に、筋腱移行部の位置も一様でないことから、太さを分類の指標に用いる時には、筋線維の構築を充分考慮する必要がある。従来、外眼筋の筋線維は、すべて起始から停止までの全長にわたっていると云われてきたが、^{32) 33)}最近 ChE 法によってネコ外眼筋で Floyd³⁴⁾ および Mayr³⁵⁾ は、腱を介さず ChE 活性陽性の筋々接合 (myomys junction) の存在を報告している。今回マウスの検索では、筋々接合に相当する構造は見出せなかった。ネコで見出され、著者の検索したマウスで見出されなかったことは、Mayr³⁵⁾ も指摘しているように、ネコでは LNMJ が帯状の分布をせず、散在性に分布していることに関係があるかも知れない。著者は今回、起始から停止の途中で腱に移行する短い筋線維の存在を ChE 活性検出法による筋腱移行部の位置と形態から、はじめて明らかにした。

神経支配様式による哺乳類外眼筋の筋線維型の分類は、Retzius¹³⁾(1892)がウサギ外眼筋で神経支配様式を異にする2種の筋線維の存在を報告して以来、2種の筋線維の存在を種々の神経染色法を用いて、いろいろの動物の外眼筋で確かめられた^{17) 56) ~ 59)}。近年 ChE 法により、神経筋接合部の検出が容易になり、一般に *en plaque* (板状) 型と呼ばれている LNMJ を備えた筋線維と、通常 *en grappe* (ブドウ状) 型と呼ばれている SNMJ を多数有する筋線維の2種の型が、外眼筋内に存在することを、ヒト^{18) 60) ~ 64)}、サル^{65) ~ 67)}、ヤギ⁶⁸⁾、ヒツジ⁴⁹⁾、ネコ^{20) 46) 68)}、ラット^{31) 48) 50) 71) ~ 73)}、モルモット^{19) 70)}、bank vole⁷⁴⁾、マウス^{28) 50)}などで調べられている。今回の検索でも SIF と MIF の2種の筋線維の存在を確認した。

ヒトの外眼筋で1本の筋線維上に隣接して2個の LNMJ が存在する場合があることが記載されているが^{18) 31) 63)}、今回のマウスでの検索では、SIF はすべて

1個の LNMJ を有していた。

Woollard¹⁷⁾(1931) は外眼筋の LNMJ は大径有髄線維で、SNMJ は小径有髄または無髄神経で支配されていることを神経軸索染色法による検索から示唆している。LNMJ は大径有髄神経によって支配され、髄鞘は LNMJ の直前まで保持されていることは、ChE と髄鞘の二重染色法によって、すでに明らかになっている^{31) 61) 57) 59)}。しかし SNMJ を支配する神経については、それが有髄であるとの説^{57) 59)}、無髄であるとの説⁷²⁾、小径有髄線維に由来する無髄線維であるとする説^{31) 67)}が対立している。今回著者は ChE-axon 法および Os-S 法連続切片の追究と、両種標本の対比から、SNMJ は、小径有髄線維に由来する無髄線維によって支配されていることを明らかにした。1本の MIF 上の多数の SNMJ が1本の神経線維によって支配されているのか、複数の神経線維によって支配されているのかは、なお明確でない。この問題の解明には、SNMJ と神経軸索の二重染色法による検索を必要とするが、この方法による研究は、我々の報告^{31) 50) 69)}以外には見当たらない。その結果によると、1本の MIF 上の幾つかの SNMJ は、1本の神経線維によって共通に支配されていることが明らかにされ、また1本の神経線維は1本の MIF 上の SNMJ のみならず近傍の MIF 上の SNMJ も共通に支配していることが明らかにされている。今回の検索でもこの所見を確かめ、さらに1本の MIF 上の SNMJ が2本の神経線維によって支配されている像も見出した。しかし、2本の神経線維が別個の neuron に由来するのか、同一 neuron の分枝によって支配されているのかについては、今回の検索から結論を出すことはできなかった。

今回著者は、電顕検索の際の材料の採取を考慮して、連続切片の再構築法によって神経筋接合部の分布の全貌を明らかにした(図1, 2)。この所見は、我々がラットについて得た結果^{31) 69)}に原則的に一致する。ただ上斜筋における LNMJ の分布に若干の相異が見られた。ラット^{59) 71)}、や種々のネズミ⁷⁵⁾の上斜筋では、LNMJ は、滑車から起始側の中央、滑車附近、滑車から停止側の中央の3か所に分布していると報ぜられているが、今回のマウスの検索では、LNMJ は起始と滑車の中央部から始まり、滑車部に終る斜め帯状の分布域と滑車と停止部の中央部の2か所に分布していた。

外眼筋には神経支配様式を異にする2種の筋線維が存在することについては、諸家の意見が完全に一致している。このことから、著者は神経支配様式による SIF と MIF の分類を分類の基本に置いた。近年、筋の支配神経を交叉縫合すると、筋線維の組織化学的な

らびに生理学的性質が相互転換することが示され⁷⁶⁻⁷⁸、筋線維型は支配神経に依存していることが指摘されている。この点も、筋線維型の分類の基本に神経支配様式を指標に選んだ理由である。

神経支配様式による分類と組織化学的分類の相関を調べた研究は少なく、僅かに Cheng⁴⁰、や我々^{50, 79}の SDH と ChE 活性の二重検出法による報告と Mayr⁴⁸ の ChE 活性と Sudan black B の二重染色法による報告を見るに過ぎない。著者は今回 SDH-ChE 法による検索によって MIF はすべて SDH 活性が微弱で、SIF には SDH 活性の強い SIF-lm と SDH 活性の弱い SIF-sm が存在することを明らかにした。Cheng⁴⁰は SIF に SDH 活性の強いものと弱いものの2種あることは述べているが、SDH 活性の微弱な MIF については触れていない。Mayr⁴⁸は SDH 活性の強弱と Sudan black B 染色の濃淡との間に密接な相関のあることに着目し、間接的に MIF の SDH 活性が微弱であることを述べている。この報告は著者の結果と一致するが、Sudan black B 染色は SDH 活性と直接の関連のない脂肪滴や筋線維の I 帯を染めることが指摘されている¹⁶ので、確実性に欠けると考えられる。

外眼筋の MIF に mito. が少ないことが電顕検索で指摘されている^{28, 50, 79}。このことは SDH が mito. に局在していることから考えて当然のことと云えよう。ところが、MIF に mito. が多いという著者の所見に反する電顕検索報告が出ている (Hess¹⁹、箕田⁸⁰)。これらの報告では、ChE 法で MIF を同定し、これを分離して合成樹脂に包埋し、その薄切片を電顕観察し上記の結論を出している。Hess¹⁹も述べているように、外眼筋線維は結合組織で互に密に結合されており、その分離は著しく困難で、今回の著者の検索でも、分離細解の際には、酢酸処理や OsO₄ 処理を行わないと MIF の分離は、ほとんど不可能に近かった。MIF に mito. が多いとの結論は、多分、分離の際に付着してきた SIF-lm を電顕下で MIF と見誤ったために生じたものと考えられる。

2. 各筋線維型の分布および特徴

哺乳類外眼筋は大径および小径筋線維が、それぞれ群をなし、全体として領域形成を示していることは、Kato (1938)¹⁴の報告以来、多くの研究者によって確められている^{7, 11, 31, 49, 48, 49}。また上眼瞼挙筋と眼球牽引筋には、このような領域形成が見られないことが報告されている^{11, 31, 49, 48, 49}。今回の検索でも、同様の結果を得た。著者は眼球と共に、全外眼筋をその位置を

変えずに連続切片とし、領域形成の位置関係を確かめた (図3)。上斜筋だけは、小径筋線維領域が他の外眼筋と異なり視神経側にあることは興味深い、その機能的意義は不明である。上眼瞼挙筋^{31, 49, 62, 69}、と眼球牽引筋^{31, 69, 69}は、MIF を欠くことが知られている。軌を一にして、この両筋に領域形成が見られない点も興味深い。領域形成は筋線維型の分布とも関連している。今回の観察では、小径筋線維領域には多数の SIF-lm と少数の MIF が分布し、大径筋線維領域には多数の SIF-sm と少数の SIF-lm および極少数の MIF が存在することを明らかにした。MIF はその大半は小径筋線維領域に、少数は大径筋線維領域に分布している。この所見は Mayr⁴⁸のラット外眼筋での所見に一致する。

外眼筋の筋線維型のうちで、古来もっとも論争と混乱を招いたのは MIF である。MIF は、両生類^{81, 82}、爬虫類^{81, 83}、鳥類^{84, 85}、では一般骨格筋にも見られるが、哺乳類では、胎生期⁸⁶を除いては、特殊な筋すなわち、筋紡錘の錘内線維^{32, 60, 87}、鼓膜張筋^{88, 89}、鎗骨筋⁸⁹、喉頭筋^{90, 91}、食道の筋⁹²と外眼筋以外には見出されていない。外眼筋に見られる MIF は運動性神経のみの支配を受ける筋線維か、あるいは求心性神経の支配も受ける錘内線維かについて、古来意見が対立している。意見が不一致の原因の一つは、動物によって外眼筋内に筋紡錘を有するもの (ヒツジ、ヤギ、ヒトなど) と、それを欠くもの (ネコ、ウサギ、ラットなど) があることによる (Hosokawa⁸³)。今回のマウスの観察では、被膜に包まれた典型的な筋紡錘は認められず、Ruffini⁹⁴(1989)が筋紡錘の求心性終末として記載した annulo-spiral ending も flower-spray ending も見出すことは出来なかった。しかしこのことから MIF が非典型的な錘内線維である可能性を否定することは出来ない。錘内線維は神経筋接合部と無関係に、筋線維自体にかなりの ChE が存在することが知られている^{31, 69}。また求心性終末の存在する筋線維の中央部では ChE 活性を欠くことも知られている⁸²。今回マウス外眼筋の MIF の観察で、このような所見は見られなかった。向野ら⁹⁵はヒト外眼筋で筋紡錘の求心性終末の電顕像を報告している。この所見と Salpeter ら²⁸および著者ら⁵⁰のマウス外眼筋における MIF の SNMJ の電顕像を対比してみると、シナプス間隙の幅、シナプス間隙における基底膜様構造の有無、終末軸索に接する筋細胞膜の分化などの点で両者に明確な差異が認められる。これらの諸点から勘案して、マウス外眼筋に見られた MIF は深部知覚に関与する錘内線維とは考え難い。

外眼筋には速い収縮をする筋線維と緩徐な持続性収

縮をする筋線維が存在することは、旧くから知られていた^{1)~3)}。近年、微小電極法を用いた生理学的ならびに薬理学的研究によって、より詳細に両筋線維の性質が調べられた^{7) 20) 47) 97) ~101)}。Bach-y-Rita¹⁰²⁾とLennerstrand¹⁰³⁾はMIFを欠く眼球牽引筋に緩徐な持続性収縮をする筋のないことから間接的に、Ozawa⁹⁸⁾は、緩徐な持続性収縮をする筋はMIFであることを、電極を入れた筋線維の色素による標識と標識した筋のChE活性検索から示した。一方Brown¹⁰¹⁾は、滑車神経中の小径有髄神経線維を選択的に刺激すると上斜筋に緩徐な持続性収縮の起ることを見出している。これらの生理学的知見と今回の検索結果を対比すると、小径有髄神経線維に由来する無髄神経によって支配されるMIFは、緩徐な持続性の収縮をすると考えられる。ここでSDH活性の微弱なMIFが長時間にわたる持続性の収縮を行うことは、エネルギー代謝の面から果して可能かとの疑問がおこる。Lannergren¹⁰⁴⁾は、単離したヒキガエルの筋についての実験で、SDH活性の微弱な筋でも持続性の収縮の可能なことを明らかにし、同時に、この筋線維の収縮力は速筋の約 $\frac{1}{10}$ であることを述べている。多分、外眼筋のMIFはSDH活性が微弱でエネルギー産生が少いが、一方収縮力が弱くエネルギー消費も少いために持続性収縮時のエネルギー平衡がとれているのであろう。

MIFの収縮現象について現在、激しい意見の対立がある。すなわち、その収縮の際に筋線維に活動電位が伝播して収縮するとの説^{47) 97)}と、伝播性の活動電位を出さずに収縮するとの説^{20) 90) 99)}が相対立している。著者の今回の検索結果をNemet⁴⁷⁾の報告と対比すると、この問題の解決の糸口がつかめそうな印象を受ける。Nemet⁴⁷⁾はネコ外眼筋で大径筋線維領域にはSDH活性の弱い筋線維があり、速い収縮をする筋線維は、この領域にのみ見出されると述べている。このことは著者のSIF-smが速い収縮をすると考えたとその分布の説明がつく。彼等は小径筋線維領域にはSDH活性が強く、伝播性の活動電位を出して遅い収縮をする筋は、小径筋線維領域と大径筋線維領域の両方に存在することを示し、この遅筋は刺激閾値の低いことから大径有髄神経線維によって支配されていることを推定している。この遅筋線維はその分布ならびに支配神経線維の種類から考えて、著者のSIF-lmに相当すると考えられる。SIF-lmが遅い収縮をする可能性は、我々⁷⁹⁾がマウス外眼筋のSIF-lmの電顕検索から得た知見からも支持される。すなわち、この筋線維内の筋形質網はI帯ではよく発達しているが、A帯では発達が悪い。筋形質網の発達度は筋の収縮速度と密接な相関があることが知られ

ている¹⁰⁵⁾ので、SIF-lmは遅い収縮をすると考えて無理はなさそうである。ところで著者の分類のMIFについては、Nemet⁴⁷⁾はこれを見落している。MIFはSIF-lmの径の $\frac{1}{2}$ 以下の極小径のものが多く、またその数もSIF-lmの $\frac{1}{4}$ 以下であることから、MIFに電極を入れることは確率の上から、かなり困難と考えられ、SIF-lmが遅い収縮をすると考えられることから、SIF-smをMIFと見誤る可能性が多い。文献を通覧すると、著者の分類のMIFに相当する筋もSIF-lmに相当する筋とともに遅筋(slow fiber)の名称で呼ばれていることが多く、しかも形態学的研究の際にも、時折この名称が用いられている。遅筋(slow fiber)と名付けられているものが、MIFを指すのか、SIF-lmを指すのか判断しかねる場合が、しばしばあり、このことが、外眼筋の筋線維型の分類について誤解と混乱を生じている大きな原因の一つである。Buller¹⁰⁶⁾(1974)はslow fiberの名称はMIFに限定して使用し、一般骨格筋の遅筋はslow-twitch fiber、速筋はfast-twitch fiberと呼ぶことを提唱している。著者は外眼筋の筋線維型の生理学的分類には、分布域の類似しているMIFとSIF-lmを混同せぬよう注意を喚起したい。

Ranvier¹⁰⁷⁾が赤筋は遅い収縮をし、白筋は速い収縮をすることを提唱して以来、このことは一般骨格筋では認められてきた¹⁰⁸⁾。しかし近年、コウモリの喉頭筋¹⁰⁹⁾ハチドリ¹¹⁰⁾の飛翔筋¹¹¹⁾、ウサギの喉頭筋¹¹²⁾など、酸化系酵素活性の強い赤筋が著しく速い収縮をすることが見出された。このことは、SDH活性と筋の収縮速度を直接に結びつけることは問題があることを示唆している。一方SDH活性の強い筋は、長時間の反復刺激によっても疲労することが少ないことが明らかにされている。外眼筋にSDH活性の強いSIF-lmが豊富に存在することは、眼球振盪のような長時間にわたる激しい運動によっても、疲労しにくいこと^{5) 6)}、に関連があると推測される。

結 論

マウス外眼筋の神経筋接合部と筋線維型の構造特性をコリンエステラーゼ活性と神経線維の二重染色法およびコハク酸脱水素酵素活性とコリンエステラーゼ活性の二重検出法により調べ、次の結果を得た。

1. マウス外眼筋は、4直筋、2斜筋、上眼瞼挙筋と眼球牽引筋の8筋からなっている。
2. 外眼筋を構成する筋線維は、その神経支配様式により、大径有髄神経線維に由来する1個の大型神経筋接合部を有する単一支配型筋線維(SIF)と小径有髄

神経線維由来の無髄神経線維に支配されている多数の小型神経筋接合部を有する多重支配型筋線維 (MIF) の2種に分類出来る。

3. MIF は極小径または小径筋線維に属し、微弱なSDH活性を示し、上眼瞼挙筋と眼球牽引筋を除く他のすべての外眼筋に見られ、その大部分は小径筋線維領域 (主に小径筋線維からなる外表層) に、少数は大径筋線維領域 (主に大径筋線維からなる内深層) に分布している。ごく少数の MIF は、筋の起始から停止の途中で腱に移行している。

4. SIF はコハク酸脱水素酵素活性によって、その活性の強い SIF-lm と、その活性の弱い SIF-sm に分類出来る。SIF-lm は小径筋線維に属し、diffuse type の神経筋接合部を1個有している。この種の筋線維は、主に小径筋線維領域に密集して存在する。SIF-sm は大径筋線維に属し、compact type の神経筋接合部を1個有している。この種の筋線維は、大径筋線維領域に局限して存在する。

5. 上眼瞼挙筋と眼球牽引筋では、筋線維の径による領域形成は認められず、SIF-lm と SIF-sm がモザイク状に配列している。

6. 上斜筋では、領域形成の位置が異なり、小径筋線維領域は内深層に存在する。

7. 大型神経筋接合部は各外眼筋のほぼ中央部の幅約 0.5 mm の範囲に帯状に分布している。上斜筋では、大型神経筋接合部は筋腹中央から滑車部に到る斜め帯状の領域と、滑車と停止の中間部の2か所に分布している。

8. マウス外眼筋には筋紡錘は認められなかった。

9. 3種の筋線維型の構造特性とその機能の相関について考察をした。

稿を終るに臨み、本研究に終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師本陣良平教授に深甚なる謝意を捧げます。

文 献

- 1) Cooper, S., & Eccles, J. C. : J. Physiol., 69, 377 (1930).
- 2) Duke-Elder, W. S. & Duke-Elder, P. M. : Proc. Roy. Soc. (Biol), 107, 332 (1930).
- 3) Brown, G. L. & Harvey, A. M. : J. Physiol., 99, 379 (1941).
- 4) 伊藤文雄 : 神研の進歩, 19, 845 (1975).
- 5) 生井浩・向野和雄 : 耳鼻と臨, 14 (補冊1), 12 (1968).
- 6) Lennerstrand, G. : J. Physiol., 236, 43 (1974).
- 7) Kern, R. : Invest. Ophthalmol., 4, 901 (1965).
- 8) Katz, R. L. & Eakins, K. E. : Invest. Ophthalmol., 6, 261 (1967).
- 9) Osserman, K. E. : Invest. Ophthalmol., 6, 277 (1967).
- 10) 宇尾野公義・木下真男 : 筋病理アトラス, 31頁, 47頁, 東京, 医学書院, 1972.
- 11) Asmussen, G., Kiessling, A. & Wohlrab, F. : Acta Anat., 79, 526 (1971).
- 12) Mayeda, R. : Z. Biol., 27, 119 (1890).
- 13) Retzius, G. : Biol. Untersuch. Neue Folge, 3, 41 (1892).
- 14) Kato, T. : Okajimas Folia Anat. Jap., 16, 131 (1938).
- 15) Krüger, P. : Anat. Anz., 104, 193 (1957).
- 16) Nachmias, V. T. & Padykula, H. A. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 4, 47 (1958).
- 17) Woollard, H. H. : J. Anat., 65, 215 (1931).
- 18) Kupfer, C. : J. Physiol., 153, 522 (1960).
- 19) Hess, A. : J. Cell Comp. Physiol., 58, 63 (1961).
- 20) Hess, A. & Pilar, G. : J. Physiol., 169, 780 (1963).
- 21) Honjin, R. : Cytol. Neurol. Stud., 9, 1 (1951).
- 22) Burston, M. S. : Amer. J. Clin. Pathol., 28, 429 (1957).
- 23) Karnovsky, M. J. & Root, L. : J. Histochem. Cytochem., 12, 219 (1964).
- 24) Namba, T., Nakamura, T. & Grob, D. : Amer. J. Clin. Pathol., 47, 74 (1967).
- 25) 中村俊雄・室野繁・本陣良平 : 解剖誌, 42(2) 付, 2 (1967).
- 26) Nachlas, M. M., Tsou, K. C., De Souza, E., Cheng, C. S. & Selligman, A. M. : J. Histochem. Cytochem., 5, 420 (1957).
- 27) 羽岡直樹 : 十全医会誌, 84, 135 (1975).
- 28) Salpeter, M. M., McHenry, F. A. & Feng, H.-H. : Anat. Rec., 179, 201 (1974).
- 29) Boeke, J. : Z. Mikrosk. Anat. Forsch., 8, 561 (1972).
- 30) Wolter, J. R. & O'Keefe, N. T. : Invest. Ophthalmol., 2, 558 (1965).

- 31) 中村俊雄 : 北陸麻酔誌, 3, 21 (1969).
- 32) Coërs, C. & Woolf, A. L. : The Innervation of Muscle. A Biopsy Study., p. 14, 32, Oxford, Blackwell Sci. Pub., 1959.
- 33) Paul, M. H. & Sperling, E. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 79, 352 (1952).
- 34) Siekevitz, P. & Watson, M. L. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, 653 (1956).
- 35) Barnett, R. J. & Palade, G. E. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 3, 577 (1957).
- 36) Sedar, A. W., Bosa, C. G. & Tsou, K.-C. : J. Histochem. Cytochem., 10, 506 (1962).
- 37) Shafip, S. A., Gorycki, M., Goldstone, L. & Milhorat, A. T. : Anat. Rec., 156, 283 (1966).
- 38) Ranvier, L. : Compt. rend. Acad. Sci., 77, 1030 (1873).
- 39) Needham, D. M. : Physiol. Rev., 6, 1 (1926).
- 40) Slater, E. C. : Structure and Function of Muscle. (Ed. G. H. Bourne), Vol. II, p. 111, New York, Academic Press, 1960.
- 41) Padykula, H. A. : Amer. J. Anat., 91, 107 (1952).
- 42) Rutenberg, A., Wolman, M. & Seligman, A. M. : J. Histochem. Cytochem., 1, 66 (1953).
- 43) Lawrie, R. A. : Biochem. J., 55, 298 (1953).
- 44) Cheng, K. : Jap. J. Ophthalmol., 8, 116 (1964).
- 45) Miller, J. E. : Invest. Ophthalmol., 6, 18 (1967).
- 46) 箕田健生 : 臨眼, 22, 1198 (1968).
- 47) Nemet, P. & Miller, J. E. : Invest. Ophthalmol., 7, 592 (1968).
- 48) Mayr, R. : Tissue Cell, 3, 433 (1971).
- 49) Harker, D. W. : Invest. Ophthalmol., 11, 956 (1972).
- 50) Nakamura, T. & Honjin, R. : Proc. 10th Intern. Cong. Anat., 225 (1975).
- 51) Voss, H., Anat. Anz., 104, 345 (1957).
- 52) Lockhart, R. D. & Brandt, W. : J. Anat., 72, 470 (1938).
- 53) Moses, R. A. : Adler's Physiology of the Eye, 5th ed., p. 116, St. Louis, C. V. Mosby, 1970.
- 54) Floyd, K. : Nature, 227, 185 (1970).
- 55) Mayr, R., Gottschall, J., Gruber, H. & Neuhuber, W. : Anat. Embryol., 148, 25 (1975).
- 56) Huber, G. C. : Anat. Anz., 15, 335 (1899).
- 57) Hines, M. : Amer. J. Anat., 47, 1 (1931).
- 58) Corbin, K. B. & Oliver, R. K. : J. Comp. Neurol., 77, 171 (1942).
- 59) Feindel, W., Hinshaw, J. R. & Weddell, G. : J. Anat., 86, 35 (1952).
- 60) Gerebtzoff, M. A. : Cholinesterases. A Histochemical Contribution to the Solution of Some Functional Problems, p. 123, 125, New York, Pergamon Press, 1959.
- 61) Cheng, K. : Jap. J. Ophthalmol., 7, 174 (1963).
- 62) Dietert, S. E. : Invest. Ophthalmol., 4, 51 (1965).
- 63) Namba, T., Nakamura, T. & Grob, D. : Neurology, 18, 403 (1968).
- 64) 中村俊雄・本陣良平:解剖誌, 45, 25 (1970).
- 65) Hess, A. : Rev. Can. Biol., 21, 241 (1962).
- 66) Silver, A. : J. Physiol., 169, 386 (1963).
- 67) Zenker, W. & Anzenbacher, H. : J. Cell Comp. Physiol., 63, 273 (1964).
- 68) 沈 健生 : 日眼会誌, 68付録, 311 (1964).
- 69) 中村俊雄・本陣良平 : 解剖誌, 42, 26 (1967).
- 70) Buckley, G. A. & Heaton, S. : J. Physiol., 199, 743 (1968).
- 71) Namba, T., Nakamura, T., Takahashi, A. & Grob, D. : J. Comp. Neurol., 134, 385 (1968).
- 72) Teräsväinen, H. : Z. Zellforsch., 90, 372 (1968).
- 73) 中村俊雄・本陣良平 : 解剖誌, 45付 1, 6 (1969).
- 74) Kaczmariski, F. : Acta Anat., 77, 570 (1970).
- 75) Kaczmariski, F. : Acta Anat., 89, 372 (1974).
- 76) Buller, A. J., Eccles, J. C. & Eccles, R. M. : J. Physiol., 150, 399 (1960).
- 77) Romanul, F. C. A. & Van der Meulen, J. P. : Arch Neurol., 17, 387 (1967).
- 78) Dubowitz, V. : J. Physiol., 193, 481 (1967).
- 79) 中村俊雄・本陣良平 : 解剖誌, 51, 285 (1976).

- 80) 箕田健生 : 神研の進歩, 19, 829 (1975).
- 81) Hunter, J. I. & Latham, O. : Med. J. Aust., 1, 27 (1925).
- 82) Hess, A. : Amer. J. Anat., 107, 129 (1960).
- 83) Tschiriew, S. : Arch. de Physiol. Norm. Pathol., 6, 89 (1879).
- 84) Hess, A. : J. Physiol., 157, 221 (1961).
- 85) Chinoy, N. J. & George, J. C. : J. Physiol., 177, 346 (1965).
- 86) Bennett, M. R. & Pettigrew, A. G. : J. Physiol., 241, 515 (1974).
- 87) Hess, A. : Anat. Rec., 139, 173 (1960).
- 88) Erulker, S. D., Shelanski, M. L., Whitrel, B. L. & Ogla, P. : Anat. Rec., 149, 279 (1964).
- 89) Femand, V. S. V. & Hess, A. : J. Physiol., 200, 547 (1969).
- 90) Manolov, S., Ivanov, D. P. & Itchev, K. : Acta Anat., 60, 406 (1965).
- 91) Rossi, G. & Cortesina, G. : Acta Otolaryng., 59, 576 (1965).
- 92) Floyd, K. : J. Physiol., 216, 37p (1971).
- 93) Hosokawa, H. : Tex. Rep. Biol. Med., 19, 405 (1961).
- 94) Ruffini, A. : J. Physiol., 23, 190 (1898).
- 95) 向野和雄・野村恒民 : 日眼会誌, 73, 2119 (1969).
- 96) Matyushkin, D. P. : Fed. Proc., 23, T 1103 (1964).
- 97) Bach-y-Rita, P. & Ito, F. : J. Gen. Physiol., 44, 1177 (1966).
- 98) Pilar, G. : J. Gen. Physiol., 50, 2289 (1967).
- 99) Ozawa, T., Cheng-Minoda, K., Davidowitz, J. & Breinin, G. M. : Doc. Ophthalmol., 26, 192 (1969).
- 100) Henn, V. & Cohen, B. : Brain Res., 45, 561 (1972).
- 101) Browne, J. S. : J. Physiol., 254, 535 (1976).
- 102) Bach-y-Rita, P. & Ito, F. : Invest. Ophthalmol., 4, 338 (1965).
- 103) Lennerstrand, G. : Acta Physiol. Scand., 91, 458 (1974).
- 104) Lännergren, J. & Smith, R. S. : Acta Physiol. Scand., 68, 263 (1966).
- 105) Hess, A. : Invest. Ophthalmol., 6, 217 (1967).
- 106) Buller, A. J. : Disorders of Voluntary Muscle. (Ed. J. N. Walton), p. 22, Edinburgh & London, Churchill Livingstone, 1974.
- 107) Ranvier, L. : Arch. de Physiol. Norm. Pathol., 6, 5 (1874).
- 108) Burke, R. E., Levine, D. N., Zajac, F. E. III., Tsairis, P. & Engel, W. K. : Science, 174, 709 (1971).
- 109) Revel, J. P. : J. Cell Biol., 12, 571 (1962).
- 110) Lasiewski, R. C., Galey, F. R. & Vasquez, C. : Nature, 206, 404 (1965).
- 111) Hall-Craggs, E. C. B. : J. Anat., 102, 241 (1968).
- 112) Edström, L. & Kugelberg, E. : J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry., 31, 424 (1968).

写真説明

Plate I

写真1. 上直筋中央部の大径筋線維領域の横断像。大径(1), 小径(s), 極小径(矢印)の3種の筋線維が見られる。H-E染色, $\times 890$

写真2. 上直筋中央部の小径筋線維領域の横断像。この領域は小径筋線維(s)と極小径筋線維(矢印)で構成されている。右側の矢印で示した極小径筋線維は中心核を有している。H-E染色。 $\times 890$

写真3. 左外眼筋の中央部の横断像。上眼瞼挙筋と眼球牽引筋以外の筋には、小径筋線維領域(矢印)が見られる。ir:下直筋, lp:上眼瞼挙筋, lr:外側直筋, mr:内側直筋, opn:視神経, so:上斜筋, sr:上直筋, H-E染色。 $\times 33$ 。

写真4. 上直筋停止側の横断像。大径筋線維領域(L)と小径筋線維領域(S)を示す。太い矢印は中心核を示す。1:大径筋線維, s:小径筋線維, 細い矢印:極小径筋線維。H-E染色。 $\times 450$

写真5. 上直筋停止側の縦断像。小径筋線維領域(S)の筋線維は、大径筋線維領域(L)の筋線維より早くに腱に移行する。太い矢印は筋腱移行部を示す。腱の近くの筋線維中に中心核(細い矢印)の連鎖が見られる。H-E染色。 $\times 890$

写真6. 上眼瞼挙筋停止部の縦断像。上眼瞼挙筋の横紋筋線維(太い矢印)と、上眼瞼板筋の平滑筋線維(細い矢印)が混在している。筋線維の分岐像(有尾矢印)が認められる。H-E染色。 $\times 890$

Plate II

写真7. 下直筋停止側の縦断像。筋腱移行部(矢印)には, ChE 活性を有する小桿状構造が柵状の平行配列をし, 全体として腱の方に頂点を向けた円蓋状を呈している。ChE 法。×890

写真8. 上直筋の中央部 $\frac{1}{2}$ の範囲でその停止側に近い端部の縦断像。停止部へ向った筋腱移行部(細い矢印)と中央へ向った筋腱移行部(太い矢印)を示す。ChE 法。×890

写真9. 上直筋中央の小径筋線維領域の縦断像。極小径筋線維の筋中央部における筋腱移行部を示す(太い矢印)。小径筋線維上の diffuse type の大型神経筋接合部(細い矢印)が見られる。ChE 法。×890

写真10. 上眼瞼挙筋より細解分離した SIF を示す。矢印は大型神経筋接合部を示す。ChE-teased 法。×450

写真11. 上直筋より細解分離した MIF を示す。1本の筋線維上に多数の小型神経筋接合部(矢印)が散在している。ChE-teased 法。×450

写真12. 上直筋中央部の大径筋線維領域の縦断像。大径筋線維上の compact type の大型神経筋接合部を示す。C-H 法。×890

写真13. 上直筋中央部の小径筋線維領域の縦断像。小径筋線維上の diffuse type の大型神経筋接合部を示す。終末軸索(矢印)は, 比較的広い範囲に分布している。C-H 法。×890

写真14. 上直筋中央部の縦断像, compact type の大型神経筋接合部を示す。ChE 法(ヘムアラウム後染色)。×890

Plate III

写真15. 上直筋中央部の縦断像。大型神経筋接合部は, それぞれ1本の大径神経分枝によって支配されている。小径神経線維の束を矢印で示してある。この神経束は筋の両端部へ主に分布している。ChE-axon 法。×450

写真16. 上直筋中央部の大径筋線維領域の縦断像。compact type の大型神経筋接合部を示す。終末軸索は筋線維表面の隆起(Doyère 丘)内に終っている。矢印は神経分枝の二叉分岐を示す。この2本の神経分枝は, それぞれ別個の筋線維に終っている。C-H 法。×890

写真17. 上直筋中央部の縦断像。大型神経筋接合部の帯状分布を示す。ChE 法。×450

写真18. 上直筋停止側の縦断像。MIF 上に散在する小型神経筋接合部(矢印)を示す。小型神経筋接合部の形が多様であることに注意。ChE 法。×890

写真19. 上直筋起始側の縦断像。極小径の MIF 上

の小型神経筋接合部(矢印)を示す。ChE 法。×450
Plate IV

写真20. 上直筋停止側の縦断像。1本の細い神経線維が, 同一 MIF 上の小型神経筋接合部のみならず, 近傍の筋線維上に位置する小型神経筋接合部も共通に支配している。ChE-axon 法。×890

写真21. 上直筋停止側の縦断像。1本の MIF は2本の神経線維(矢印)によって支配されている。ChE-axon 法。×450

写真22. 上直筋停止側の縦断像。小径神経線維の静脈瘤様腫大(矢印)を示す。axon 法。×890

写真23. 上直筋中央部と停止側の縦断像。大型神経筋接合部(太い矢印)は筋の中央に局限して存在し, 小型神経筋接合部(細い矢印)は停止側, 特にその小径筋線維領域に主に分布している。S: 小径筋線維領域, L: 大径筋線維領域。ChE 法。×90

写真24. 下直筋中央部の縦断像。小径神経線維の束(細い矢印)が, 大径神経線維の束(太い矢印)と合流する部を示す。C-H 法。×450

Plate V

写真25. 上直筋中央部の縦断像。大径有髄線維(太い矢印)とその径の $\frac{1}{2}$ 以下の小径有髄線維(細い矢印)を示す。Os-S 法。×890

写真26. 上直筋中央部の縦断像。上直筋に入った直後の神経束の横断像を示す。大径有髄神経の径の $\frac{1}{2}$ 以下の小径有髄神経(矢印)が含まれていることに注意。Os-S 法。×890

写真27. 上直筋の中央部 $\frac{1}{2}$ の範囲で, その停止側端部の縦断像。小径有髄神経線維が髄鞘を脱して無髄神経に移行する部(矢印)を示す。Os-S 法。×890

写真28. 上直筋中央部の起始側の大径筋線維領域の縦断像。小型神経筋接合部(矢印)が散在している MIF は SDH 活性が微弱なことに注意。SDH-ChE 法。×890

写真29. 上直筋より細解分離した MIF。小型神経筋接合部(矢印)が散在している MIF の SDH 活性が微弱であることに注意。SDH-ChE 法。×890

写真30. 上直筋停止側の大径筋線維領域の横断像。小型神経筋接合部(矢印)を有する MIF は SDH 活性が微弱で, 大径筋線維(1)の SDH 活性は弱く, 小径筋線維(s)の SDH 活性は強いことに注意。SDH-ChE 法。×890

写真31. 上直筋の中央部の大径筋線維領域の縦断像。compact type の大型神経筋接合部を有し, SDH 活性の弱い, 大径の SIF-sm と diffuse type の大型神経筋接合部を有し, SDH 活性の強い SIF-lm を示す。

SDH-ChE 法。×890

Plate VI

写真32. 上直筋中央部の大径筋線維領域の横断像。SIF-sm (1) と SIF-lm (2) が見られ、前者には SDH 活性が弱く、後者には SDH 活性が強く示されている。矢印は大型神経筋接合部を示す。SDH-ChE 法。×890

写真33. 上眼瞼挙筋中央部の横断像。SDH 活性が弱い SIF-sm (1) と SDH 活性の強い SIF-lm (2) が混在している。矢印は大型神経筋接合部を示す。SDH-

ChE 法。×890

写真34. 眼球牽引筋中央部の横断像。SDH 活性反応産物は SIF-sm (1) では、微細顆粒状で、SIF-lm (2) では粗大顆粒状を呈し、筋鞘下の細胞質内に反応産物の集積が認められる。SDH-ChE 法。×890

写真35. 上直筋中央部の小径筋線維領域の横断像。SDH 活性の強い SIF-lm (2) と SDH 活性の微弱な MIF (矢印) を示す。SIF-lm の SDH 活性は、粗大顆粒状に示され、筋鞘下にも強い活性が認められる。SDH 法。×890

A b s t r a c t

The structural characteristics of the neuromuscular junctions and the muscle fiber types in the extraocular muscle of the mouse were studied by a double staining method for cholinesterase activity and nerve fiber, as well as by a double demonstration method for succinic dehydrogenase activity (SDH) and cholinesterase activity. The results obtained were summarized as follows :

The extraocular muscles of the mouse are composed of four recti, two obliques, a retractor bulbi, and a levator palpebrae superioris muscle. According to the muscle fiber size, the extraocular muscles are divided into two distinct zones, except for the retractor and palpebrae ones : a small-fiber zone (an outer superficial zone predominantly composed of small fiber), and a large-fiber zone (an inner deep zone mainly composed of large fibers).

According to the innervation pattern, the muscle fibers in the extraocular muscles could be classified into two types : singly-innervated fibers (SIF) with a large neuromuscular junction (LNMJ) supplied from the large myelinated nerve fiber, and multiply-innervated fibers (MIF) with several small neuromuscular junctions innervated by unmyelinated nerve fibers derived from small myelinated nerve fibers.

In the extraocular muscles, except for the levator palpebrae and retractor bulbi muscle, there are found MIF which belong to the small or extremely small muscle fibers and show very weak SDH activity. The majority of MIF are distributed in the small-fiber zone. A small number of MIF do not run the whole length of the muscle, but terminate at the musculo-tendinous junctions.

SIF are divided into two subtypes concerning the SDH activity : muscle fibers with intense activity (SIF-lm) and those with weak activity (SIF-sm).

SIF-lm are provided with LNMJ of 'diffuse type'. The majority of SIF-lm occur in the small-fiber zone.

SIF-sm are provided with LNMJ of 'compact type'. This type of muscle fiber is found exclusively in the large-fiber zone.

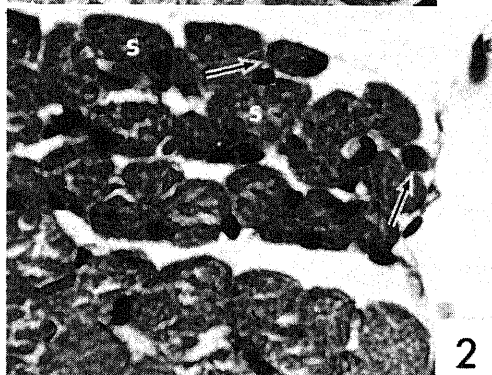
No distinct zone-formation of muscle fiber is found in the levator palpebrae or in the retractor bulbi muscles. In these muscles, SIF-lm, and SIF-sm are intermingled with each other, showing a mosaic pattern.

No muscle spindle could be found in any of the extraocular muscles.

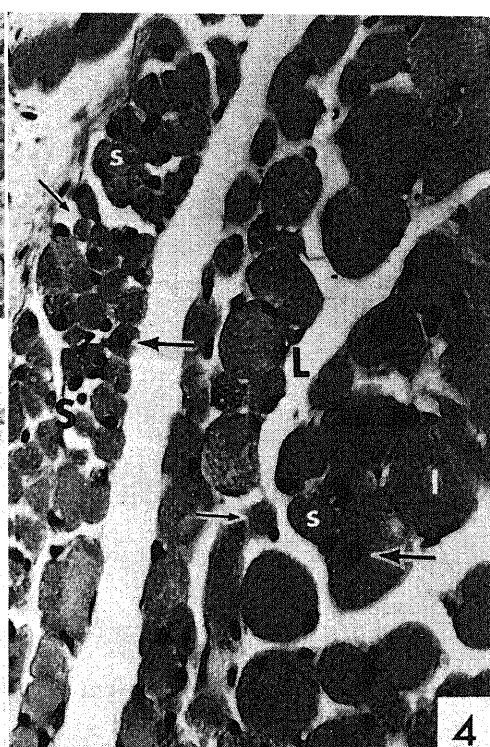
Possible correlation of structural characteristics with the function of three different types of muscle fibers was discussed.



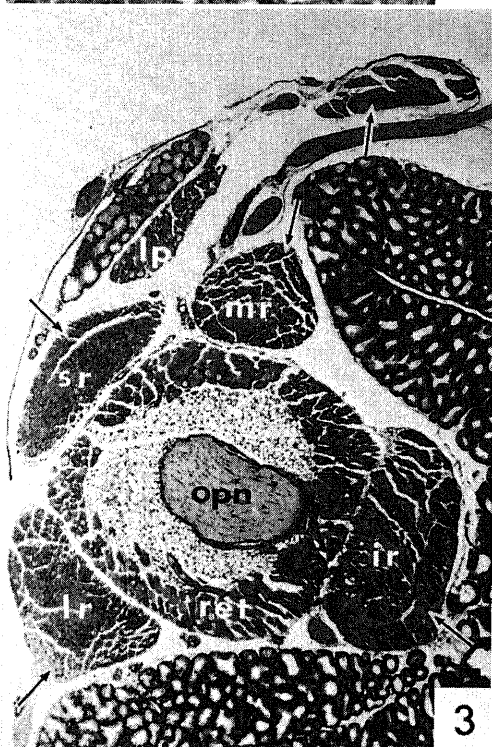
1



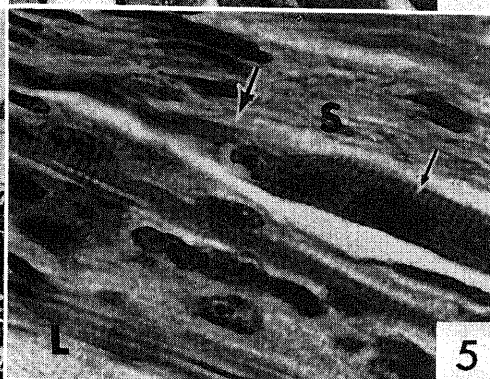
2



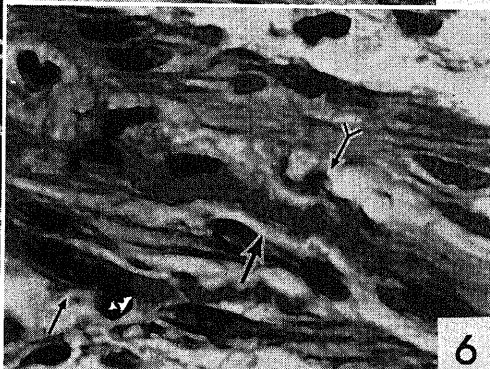
4



3



5



6

